

Teknik Sterilisasi Eksplan Tunas Kentang Granola Kembang (*Solanum Tuberosum L.*) untuk Kultur *in Vitro*

*Explant Sterilization Technique of Shoot Granola Kembang Potato (*Solanum tuberosum L.*) for In Vitro Culture*

Syarif Hamdani, Delima Nugraha, Tiara Berliani, Umi Baroroh*

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

*E-mail: umibaroroh@stfi.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v3i2.63>

Received: 1 Nov 2020, Revised: 29 Nov 2020, Accepted: 29 Nov 2020, Online: 30 Nov 2020

Abstrak

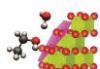
Kentang (*Solanum tuberosum L.*) merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan, baik kentang segar maupun olahan. Namun, produktivitasnya masih rendah karena mutu bibit yang tersedia masih terbatas dan kualitasnya juga kurang baik. Kentang kultivar granola kembang potensial untuk dikembangkan karena umur panen yang pendek dan tinggi hasil. Perbanyakan *in vitro* dapat dilakukan untuk menghasilkan benih yang bermutu. Keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh teknik sterilisasi eksplan. Adanya kontaminasi bakteri, jamur, dan terjadinya pencoklatan pada eksplan dapat mengganggu proses perbanyakan kultur. Pada penelitian ini, enam teknik sterilisasi diterapkan pada eksplan tunas kentang untuk mendapatkan teknik sterilisasi yang tepat pada perbanyakan kentang secara *in vitro*. Berbagai kombinasi zat sterilan dan urutan penggunaannya juga digunakan. Evaluasi pertumbuhan pada panjang batang dan jumlah daun dilakukan selama empat minggu setelah tanam (MST). Hasil menunjukkan bahwa teknik sterilisasi menggunakan Tween-20, benomil 50%, dan agrimisin di luar LAF serta NaOCl 15% (v/v), NaOCl 10% (v/v), dan alkohol 70% di dalam LAF menghasilkan persentase eksplan steril terbanyak, 70%, dibanding teknik lainnya. Meskipun demikian, teknik sterilisasi yang digunakan pada penelitian ini tidak mempengaruhi percepatan pertumbuhan tinggi batang dan jumlah daun.

Kata kunci: granola kembang, *in vitro*, kentang, kultur jaringan, sterilisasi

Abstract

Potato (*Solanum tuberosum L.*) is a plant that widely used, both fresh and processed. However, the productivity of this plant is still low because the quality of seeds is still limited and is not good enough. The cultivar of granola kembang is potential to be developed because of the short harvest life and high yield. *In vitro* propagation through tissue culture can be done to produce high-quality seeds. The success of tissue culture is strongly influenced by explant sterilization techniques. Bacterial, fungal, and browning contamination can interfere with the process of culture propagation. In this study, six sterilization techniques were applied to potato shoot explants to get the right sterilization techniques for *in vitro* culture of potato. Various combinations of sterilant and their order of use are also used. Growth of stem length and number of leaves was also investigated for four weeks after planting (WAP). The results showed that sterilization using Tween-20, benomyl 50%, and agrimycin outside LAF and NaOCl 15% (v/v), NaOCl 10% (v/v), and alcohol 70% inside LAF could produce the highest percentage of sterile explant, 70%, compare to other techniques. Nevertheless, the sterilization technique used in this study did not affect the acceleration of stem growth and the number of leaves.

Keywords: granola kembang, *in vitro*, potato, sterilization, tissue culture



1 Pendahuluan

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu tanaman yang mendapatkan prioritas untuk dikembangkan di Indonesia. Tanaman ini memiliki nilai ekonomis yang prospektif untuk meningkatkan kesejahteraan masyarakat [1]. Pada kentang segar, kandungan protein lebih tinggi dibandingkan dengan umbi-umbi lainnya [2]. Penggunaan kentang juga semakin berkembang, mulai dari kentang segar hingga kentang olahan, seperti keripik, kentang goreng, dan aneka makanan ringan [3].

Produktivitas kentang di Indonesia masih rendah dan mutu bibit yang unggul juga jumlahnya masih terbatas. Para petani menggunakan bibit umbi kentang dari generasi sebelumnya, hasil panen yang dimanfaatkan sebagai bibit. Hal ini terjadi karena harga bibit kentang yang bermutu tinggi relatif mahal [4]. Kentang dari kultivar granola kembang banyak ditanam di Indonesia. Beberapa keunggulan kentang ini adalah umur panen pendek, hasil tinggi, bentuk umbi yang baik, dan tahan terhadap virus daun menggulung (PLRV) dan virus X atau PVX [5]. Oleh karena itu, kentang kultivar ini potensial untuk dikembangkan.

Perbanyakan secara *in vitro* dapat digunakan sebagai alternatif menghasilkan benih kentang yang bermutu tinggi. Teknik kultur jaringan merupakan salah satu metode perbanyakan tanaman secara vegetatif. Dengan menggunakan teknik ini, bibit kentang yang dihasilkan bisa lebih banyak dengan waktu yang relatif singkat, bebas hama, penyakit, dan virus, tidak bergantung musim, serta bibit yang dihasilkan lebih seragam seperti induknya [6]. Keberhasilan kultur jaringan tergantung pada sterilisasi eksplan [7]. Teknik sterilisasi permukaan banyak digunakan untuk menghilangkan kontaminan yang terdapat pada permukaan dan bagian dalam eksplan. Selama proses sterilisasi dengan penambahan zat sterilan, eksplan harus tetap hidup dan hanya kontaminan yang tereliminasi [8]. Sampai saat ini, belum ada yang memastikan teknik sterilisasi apa yang optimal untuk mensterilkan tunas kentang [9]. Pada dasarnya, konsentrasi dan waktu paparan berbeda-beda dari satu eksplan ke eksplan lainnya tergantung pada morfologinya, seperti kelembutan dan kekerasan jaringan [10]. Sumber eksplan yang bisa digunakan dapat berupa pucuk muda, daun muda, batang muda, hipokotil, maupun kotiledon [11].

Mikroba biasanya menjadi kontaminan yang umum ditemukan. Jika dibiarkan, maka mikroba

akan hidup dan berkembang di dalam kultur sehingga dapat menyebabkan kematian eksplan [12]. Beberapa zat sterilan, seperti bakterisida, fungisida, alkohol, detergen, dan larutan hipoklorit diketahui dapat mensterilkan eksplan dari bakteri, jamur, dan mikroorganisme lain yang mengganggu proses perbanyakan [13]. Meskipun demikian, konsentrasi dan waktu terpaparnya eksplan pada zat sterilan juga harus ditentukan untuk setiap eksplan karena zat sterilan bersifat sitotoksik [7].

Beberapa teknik sterilisasi sudah banyak dilakukan dan berhasil diterapkan pada perbanyakan kultur *in vitro*. Ardiansyah dkk menggunakan bakterisida, fungisida, detergen, dan larutan hipoklorit untuk mensterilisasi tanaman tembesu [9]. Penelitian lainnya juga menggunakan zat sterilan yang sama dengan menambahkan alkohol untuk sterilisasi tanaman kokoleceran [14]. Berbeda dengan teknik sebelumnya, Astuti dan Hadiyana hanya menggunakan larutan hipoklorit dan alkohol masing-masing untuk mensterilkan tanaman bambu kuning dan stevia [15,16]. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan teknik sterilisasi yang sesuai untuk eksplan tunas kentang granola kembang dengan mengaplikasikan berbagai teknik sterilisasi yang sudah berhasil dilakukan. Selain itu, pertumbuhan batang dan daun juga diamati selama proses pertumbuhan eksplan selama 4 MST. Hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai alternatif teknik sterilisasi pada tunas kentang granola kembang agar terhindar dari kontaminan yang mengganggu proses perbanyakan.

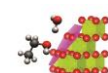
2 Metode Penelitian

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium RHIN (Rahma Hendra Inaaya Niniek) Bioteknologi, Jalan Sekarkadaton No. 10, Tegalega, Bandung, Jawa Barat pada bulan Maret sampai Juni 2018.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan sebagai eksplan adalah tunas kentang granola kembang yang berukuran sekitar 5 cm yang diperoleh dari BALITSA (Badan Penelitian Tanaman Sayuran), Cikole, Lembang, Jawa Barat (6°48'07.1"S 107°38'59.6"E). Bahan-bahan untuk pembuatan media MS [17] yaitu larutan makro (NaNO_3 , KNO_3 , KH_2PO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), larutan mikro (H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KI , $\text{NaMoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), larutan vitamin



(niasin, piridoksin HCl, tiamin HCl), larutan glisin, larutan FeEDTA, myo-inositol, sukrosa, agar-agar, HCl, dan NaOH. Zat sterilan yang digunakan adalah detergen, Tween-20, agrimicin, benomil 50%, NaOCl 5,25%, povidon-iodin 5%, etanol 70%, dan akuades.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium (Iwaki), timbangan analitik (Ohaus), *Laminar Air Flow* (LAF), kompor gas (hock), pH meter (Hanna), autoklaf (Allamerican), *heating*

magnetic stirrer (velp), pinset, pipet tetes, pisau bedah, dan botol.

2.3 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah tunas kentang granola kembang yang diperoleh dari BALITSA. Tunas kentang yang masih menempel pada bagian kentang (Gambar 1.a) dipotong sehingga diperoleh tunas dengan panjang sekitar 5 cm (Gambar 1.b).



Gambar 1. Tunas kentang yang dijadikan sebagai eksplan. a) Tunas yang menempel pada kentang dan b) tunas yang sudah dipotong.

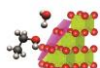
2.4 Sterilisasi Eksplan

Teknik sterilisasi eksplan yang dilakukan terdiri dari enam teknik dengan menggunakan zat sterilan dan konsentrasi yang berbeda serta

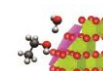
penggunaan LAF yang bervariasi. Teknik sterilisasi yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Teknik sterilisasi eksplan

Teknik	Bahan	Perlakuan	Waktu
TA	Di luar LAF		
	Deterjen (2 g/L)	Dicuci	Sampai bersih
	Benomil 50% (3 g/L)	Direndam	2 jam
	Agrimicin (3 g/L)	Direndam	1 jam
	Di dalam LAF		
	Tween-20 (2 tetes)	Direndam	20 menit
TB	NaOCl 10% (v/v)	Direndam	20 menit
	Di luar LAF		
	Air mengalir	Dicuci	Sampai bersih
	Deterjen (2 g/L)	Direndam	5 menit
	Akuades steril	Dibilas	Sampai bersih
	Tween-20 (3 tetes)	Direndam	10 menit
	Akuades steril	Dibilas	Sampai bersih
	Benomil 50% (2 g/L)	Direndam	1 jam
	Agrimicin (2 g/L)	Direndam	1 jam
TB	Akuades steril	Dibilas	Sampai bersih
	Di dalam LAF		
TB	NaOCl 15% (v/v)	Direndam	10 menit
TB	NaOCl 10% (v/v)	Direndam	15 menit



	Alkohol 70% Akuades steril	Direndam Dibilas	1 menit Sampai bersih
TC	Di luar LAF Alkohol 70% Tisu + Alkohol 70%	Dicelupkan Dilap	
	Di dalam LAF Alkohol 70%	Direndam	10 menit
	Akuades steril	Direndam	5 menit
	NaOCl 20% (v/v)	Direndam	7 menit
	Akuades steril	Direndam	5 menit
	NaOCl 10% (v/v)	Direndam	7 menit
	Akuades steril	Direndam	5 menit
	NaOCl 5% (v/v)	Direndam	7 menit
	Akuades steril	Direndam	5 menit
TD	Di luar LAF Air mengalir Deterjen	Dicuci Direndam	Sampai bersih 7 menit
	Air mengalir	Dicuci	Sampai bersih
	Di dalam LAF Alkohol 70%	Direndam	2 menit
	Akuades steril + Tween-20 (60/100 ml)	Direndam	7 menit
	Akuades steril	Dibilas	Sampai bersih
TE	Di luar LAF Deterjen	Dicuci	30 menit
	Air mengalir	Dibilas	15 menit
	Di dalam LAF Benomil 50% (2 g/L)	Direndam	1 jam
	Agrimisin (2 g/L)	Direndam	1 jam
	Akuades steril	Dicuci 3 kali	5 menit
	Alkohol 70%	Dicuci	10 menit
	Akuades steril	Dicuci 3 kali	5 menit
	NaOCl 30% (v/v)	Direndam	10 menit
	Akuades steril	Dicuci 3 kali	5 menit
	NaOCl 20% (v/v)	Direndam	10 menit
	Akuades steril	Dicuci 2 kali	5 menit
TF	Di luar LAF Air mengalir	Dibersihkan	Sampai bersih
	Air mengalir	Dialiri	15 menit
	Deterjen	Dikocok	30 menit
	Air mengalir	Dialiri	15 menit
	Benomil 50% (2 g/L)	Dikocok	1 jam
	Agrimisin (2 g/L)	Dikocok	1 jam
	Alkohol 70%	Dikocok	10 menit
	NaOCl 30% (v/v)	Dikocok	30 menit
	Akuades steril	Dibilas	
	NaOCl 20% (v/v)	Dikocok	30 menit
	Akuades steril	Dibilas	
	Povidon-iodin 5%	Dikocok	15 menit
	Akuades steril	direndam	Sampai ditanam



2.5 Pembuatan Media MS

Media MS dibuat sebanyak 2 liter, dengan cara mencampurkan larutan makro, larutan mikro, larutan vitamin, larutan glisin, dan larutan FeEDTA masing-masing sebanyak 20 mL ke dalam labu ukur 2000 mL yang disimpan di atas *magnetic stirrer*. Kemudian ditambahkan myo-inositol 0,2 g serta sukrosa 60 g dan diaduk dengan menggunakan *heating magnetic stirrer* sampai semua bahan larut. pH larutan dicek menggunakan pH meter sampai pH 5,7-5,8. Larutan ditambahkan agar-agar 12 g dan dipanaskan sampai mendidih. Setelah itu, larutan dituang ke dalam botol dan ditutup dengan tutup botol yang dilapisi *plastic wrap*. Media disterilkan dengan cara diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan disimpan di ruang steril selama 3 hari sebelum digunakan. Setiap unit percobaan digunakan 10 botol, sehingga terdapat total 60 botol untuk 6 perlakuan (TA-TF).

2.6 Penanaman dan Pengamatan Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAF secara aseptik. Masing-masing botol medium ditanam satu potong eksplan. Botol ditutup rapat dan dilapisi dengan *plastic wrap*. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 4 minggu. Parameter yang diamati adalah jumlah eksplan yang steril dan terkontaminasi bakteri, jamur, maupun pencoklatan. Pertumbuhan tinggi batang dan banyak daun juga diamati untuk mengevaluasi pertumbuhan eksplan.

3 Hasil dan Diskusi

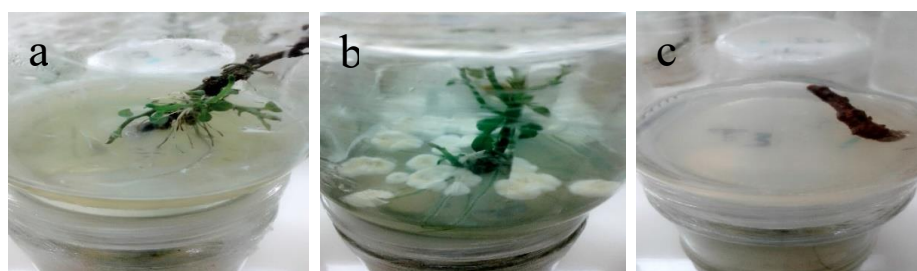
Teknik sterilisasi yang digunakan pada penelitian ini merupakan adaptasi dari penelitian-penelitian sebelumnya yang telah berhasil diterapkan. Setiap tanaman memiliki ciri khas yang berbeda-beda sehingga tidak ada teknik sterilisasi yang baku [18]. Sebagai tambahan, kontaminasi oleh mikroba merupakan

permasalahan yang selalu ada dalam kultur jaringan [19]. Teknik sterilisasi yang dilakukan pada penelitian ini terdiri dari enam teknik, masing-masing TA, TB, TC, TD, TE, dan TF.

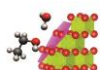
Sterilisasi merupakan langkah awal dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro* dan merupakan tahapan yang penting. Adanya kontaminasi pada eksplan dapat menghambat proses perbanyakan dan dalam jumlah besar dapat menghabiskan bahan kimia yang biayanya cukup besar [13]. Beberapa kontaminan yang biasa terdapat pada tanaman adalah bakteri dan jamur. Selain itu, terjadinya pencoklatan pada tanaman juga mengganggu proses pertumbuhan. Ketiga parameter ini yang diamati pada sterilan eksplan tunas kentang selama 4 MST.

3.1 Sterilisasi Eksplan

Hasil sterilisasi eksplan selama 4 MST menunjukkan beberapa eksplan berhasil tumbuh dan ada yang terkontaminasi. Tanaman yang terkontaminasi bakteri akan berlendir atau sedikit basah, sedangkan tanaman yang terkontaminasi jamur akan lebih kering dan muncul hifa jamur yang dicirikan dengan garis-garis berwarna putih sampai abu-abu [18]. Pada Tabel 2, beberapa eksplan pada semua teknik terkontaminasi mulai dari 1 MST hingga 4 MST. Gambar 2. menunjukkan eksplan yang terkontaminasi bakteri, jamur, dan terjadi pencoklatan selama 4 MST. Eksplan yang steril dapat dilihat pada Gambar 3. Persentase eksplan steril disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 4. Hasil eksplan steril terbesar diperoleh pada TB dengan persentase 70%, diikuti TA dan TC sebesar 40%, dan TE sebesar 20%. Sedangkan untuk TD dan TF semua eksplan terkontaminasi. Kontaminan bakteri terjadi paling banyak pada TD, pencoklatan pada TF, dan jamur terjadi pada TA-TD dengan persentase yang relatif sama (20-30%). Hasil eksplan yang terkontaminasi ketiga jenis kontaminan adalah TD.

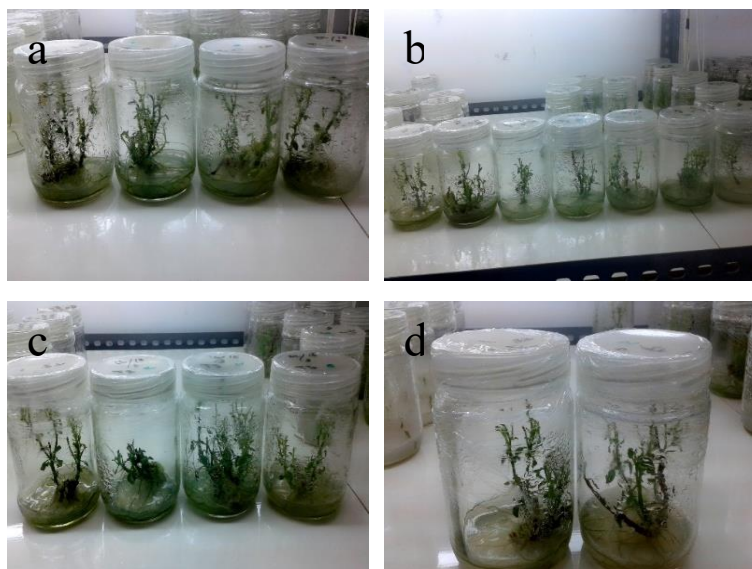


Gambar 2. Eksplan yang terkontaminasi a) bakteri, b) jamur, dan c) pencoklatan selama 4 MST.

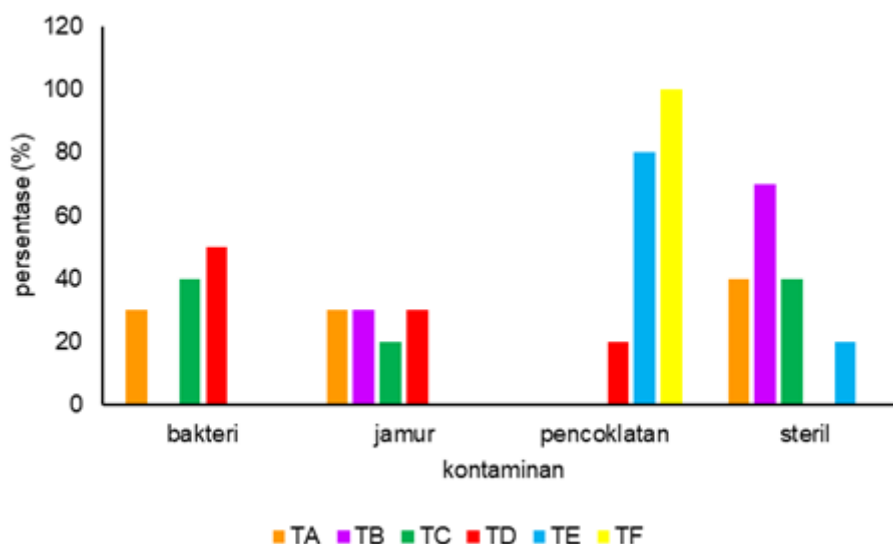


Tabel 2. Data persentase eksplan steril dan terkontaminasi

Perlakuan	Kondisi	Botol awal	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST	Persentase
TA	Steril	10	9	5	5	4	40%
	Bakteri		1	3	3	3	30%
	Jamur			2	2	3	30%
	Pencoklatan						
TB	Steril	10	10	8	7	7	70%
	Bakteri						
	Jamur			2	3	3	30%
	Pencoklatan						
TC	Steril	10	6	6	4	4	40%
	Bakteri		2	2	4	4	40%
	Jamur		2	2	2	2	20%
	Pencoklatan						
TD	Steril	10	6	6	5		0%
	Bakteri		2	2	3	5	50%
	Jamur		2	2	2	3	30%
	Pencoklatan					2	20%
TE	Steril	10	2	2	2	2	20%
	Bakteri						
	Jamur						
	Pencoklatan		8	8	8	8	80%
TF	Steril	10					0%
	Bakteri						
	Jamur						
	Pencoklatan		10	10	10	10	100%



Gambar 3. Eksplan steril pada a) TA, b) TB, c) TC, dan d) TE.



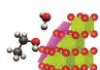
Gambar 4. Grafik persentase kontaminan dan steril selama 4 MST pada semua teknik.

Pada TB terdapat zat sterilan benomil dan agrimicin yang berfungsi sebagai antijamur dan antibakteri. Perendaman dengan Tween-20 pada proses awal juga membantu penyerapan zat sterilan sehingga lebih efektif [14]. Kontaminan jamur yang terjadi diduga karena perendaman dengan benomil kurang optimal. Pada TA perendaman selama 1 jam dengan benomil juga menghasilkan 30% kontaminan jamur sehingga waktu ini diduga masih kurang optimal. Sedangkan untuk kontaminasi bakteri tidak terjadi pada TB, hal ini diduga karena ada penambahan etanol 70% yang mampu membunuh bakteri. Selain itu, adanya larutan NaOCl 10% (v/v) dan 15% (v/v) juga membantu membunuh mikroorganisme sehingga eksplan menjadi lebih steril dibandingkan eksplan lainnya. Kombinasi etanol dan NaOCl telah terbukti mampu mensterilkan eksplan [8]. Rodrigues *et al.* juga menggunakan larutan hipoklorit untuk mensterilisasi *Arundina bambusifolia* dengan berbagai konsentrasi, hasil yang didapatkan adalah semakin rendah konsentrasi memberikan hasil yang lebih optimum dan mendorong pertumbuhan eksplan [20].

Persentase eksplan steril pada TA dan TC adalah sama, 40%. Adanya kontaminan bakteri dan jamur pada TA diduga karena penggunaan Tween-20 dilakukan setelah perendaman agrimicin dan benomil sehingga peresapannya kurang optimal. Kontaminan bakteri terjadi pada 1 MST, sedangkan kontaminan jamur terjadi pada 2 MST. Terjadinya kontaminasi bakteri dalam waktu yang cepat diduga karena waktu perendaman dengan agrimicin kurang optimal,

sama seperti pada TB. Sedangkan untuk kontaminan jamur terjadi pada waktu yang lebih lama diduga karena waktu perendaman dengan benomil lebih optimal. Meskipun demikian, kombinasi NaOCl dan benomil adalah metode sterilisasi terbaik pada biji *Ziziphus spina* dan menghasilkan tunas yang tertinggi dibanding kombinasi lainnya [21]. Pada TC, zat sterilan yang ditambahkan hanya etanol 70% dan NaOCl dengan berbagai konsentrasi (20%, 10%, dan 5% (v/v)). Tidak adanya fungisida dan bakterisida menyebabkan eksplan lebih cepat terkontaminasi. Hal ini juga menunjukkan bahwa penggunaan NaOCl saja masih kurang optimal untuk mensterilisasi eksplan.

Persentase eksplan steril terkecil diperoleh pada TE. Meskipun terdapat banyak zat sterilan seperti, benomil, agrimicin, etanol, dan NaOCl, namun pencucian sebanyak tiga kali dengan akuades diduga merusak jaringan-jaringan pada eksplan. Kerusakan jaringan ini menyebabkan eksplan rusak dan terjadi reaksi pencoklatan. Reaksi ini terjadi karena adanya enzim polifenol oksidase yang mengakibatkan terjadinya oksidasi senyawa fenol menjadi quinon yang memproduksi pigmen berwarna coklat ketika jaringan terluka [22]. Reaksi pencoklatan ini terjadi 80% pada 1 MST dan tidak terdapat kontaminan bakteri dan jamur pada eksplan sisa. Penggunaan tunas sebagai eksplan harus dilakukan secara hati-hati agar tidak merusak bagian jaringan tunas karena rentan terhadap pergerakan yang kasar. Selain itu, penggunaan zat sterilan dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan eksplan mengalami dehidrasi



dan menguning atau menyoklat [23]. Dalam hal ini, konsentrasi NaOCl yang lebih tinggi daripada teknik lainnya (TE dan TF) juga dapat mempengaruhi terjadinya pencoklatan pada eksplan.

TD dan TF terkontaminasi pada seluruh eksplan. Pada TD, eksplan terkontaminasi bakteri dan jamur pada 1 MST dan meningkat hingga 4 MST. Hal ini diduga karena etanol 70% saja kurang optimum mensterilkan eksplan sehingga mudah terkontaminasi. Sebaliknya, penggunaan etanol 70% yang dikombinasikan dengan bahan aktif mankozeb dan NaOCl dengan H_2O_2 mampu memberikan hasil sterilisasi terbaik untuk eksplan ramin [24]. Reaksi pencoklatan juga terjadi pada 4 MST. Hal ini diduga karena adanya jaringan yang rusak pada eksplan tersebut sehingga semua eksplan pada TD tidak ada yang steril. Sedangkan untuk TF, reaksi pencoklatan terjadi pada semua eksplan pada 1 MST diduga karena adanya pengocokan pada setiap perlakuan yang membuat jaringan rusak. Meskipun pada TF semua zat sterilan ditambahkan, namun karena jaringan sudah rusak maka zat ini tidak dapat berfungsi dengan baik. Selain itu, perlakuan yang dilakukan pada TF juga kurang aseptik karena semua

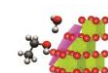
penambahan zat sterilan dilakukan di luar LAF. Walaupun demikian, kombinasi zat sterilan pada TF jika dilakukan di dalam LAF mungkin akan memberikan hasil yang berbeda. Penggunaan larutan hipoklorit, agrimicin, dan Tween-20 dapat mensterilkan eksplan nodal mahogany [25].

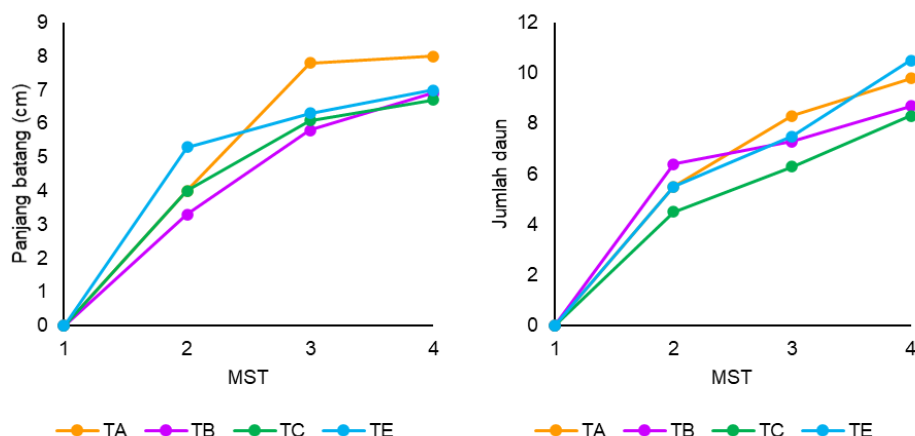
3.2 Pertumbuhan Batang dan Daun

Pertumbuhan batang dan daun yang diamati hanya pada eksplan yang steril (Gambar 3.). Pertumbuhan baru terjadi pada 2 MST karena pada 1 MST eksplan baru menumbuhkan tunas. Awal muncul tunas merupakan indikator awal pertumbuhan eksplan. Media yang digunakan tanpa menggunakan zat pengatur tumbuh sehingga pertumbuhannya murni hasil sterilisasi. Tabel 3. menunjukkan pertumbuhan batang dan daun serta Gambar 5. menunjukkan grafik rata-rata pertumbuhan batang dan daun yang diamati setiap minggu. Untuk pertumbuhan batang, TB, TC, dan TE memiliki rata-rata panjang sekitar 7 cm sedangkan pada TA rata-rata panjang batang mencapai 8 cm. Pada pertumbuhan daun menunjukkan bahwa semua teknik menghasilkan jumlah daun yang tidak berbeda signifikan. Rata-rata jumlah daun yang terbentuk adalah 8-10 daun.

Tabel 3. Data pertumbuhan eksplan pada batang dan daun

Perlakuan	1MST		2MST		3MST		4MST	
	Tgi btng	Jmlh daun	Tgi btng	Jmlh daun	Tgi btng	Jmlh daun	Tgi btng	Jmlh daun
TA	T	T	5,0	5,0	9,0	8,0	9,0	13,0
	T	T	2,0	5,0	6,0	6,0	7,0	6,0
	T	T	4,0	5,0	7,0	7,0	7,0	8,0
	T	T	5,0	7,0	9,0	12,0	9,0	12,0
Rata-rata			4,0	5,5	7,8	8,3	8,0	9,8
TB	T	T	4,0	7,0	7,0	10,0	7,0	10,0
	T	T	3,5	7,0	6,0	7,0	7,0	7,0
	T	T	4,0	7,0	6,0	7,0	6,5	7,0
	T	T	2,0	4,0	5,0	5,0	7,0	7,0
	T	T	2,0	5,0	6,0	7,0	7,0	11,0
	T	T	3,5	5,0	5,0	5,0	7,0	7,0
	T	T	4,0	10,0	5,5	10,0	7,0	12,0
Rata-rata			3,3	6,4	5,8	7,3	6,9	8,7
TC	T	T	4,0	6,0	6,0	9,0	7,0	10,0
	T	T	3,0	3,0	4,0	3,0	4,0	3,0
	T	T	6,0	4,0	8,5	7,0	9,0	12,0
	T	T	3,0	5,0	5,9	6,0	6,8	8,0
Rata-rata			4,0	4,5	6,1	6,3	6,7	8,3
TE	T	T	5,0	5,0	6,3	8,0	7,0	11,0
	T	T	5,5	6,0	6,2	7,0	7,0	10,0
Rata-rata			5,3	5,5	6,3	7,5	7,0	10,5





Gambar 5. Grafik rata-rata pertumbuhan eksplan pada panjang batang (kiri) dan jumlah daun (kanan).

4 Kesimpulan

Teknik sterilisasi berpengaruh terhadap jumlah kontaminasi yang terjadi pada eksplan tunas kentang granola kembang. Teknik sterilisasi TB memiliki persentase keberhasilan tertinggi dibanding teknik lainnya. Teknik ini mampu mencegah terjadinya kontaminasi bakteri dan reaksi pencoklatan. Kombinasi zat sterilan, waktu, urutan, dan cara perendaman mempengaruhi sterilitas eksplan. Teknik sterilisasi yang digunakan pada penelitian ini tidak mempengaruhi percepatan pertumbuhan tinggi batang dan jumlah daun.

Ucapan Terima Kasih

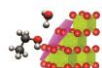
Terima kasih kepada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia dan Yayasan Hazanah, Bandung yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini.

Daftar Pustaka/ References

- [1] Budi NR, Prasetyo I, Yuniwati ED. Pengaruh Umur Transplantasi Stek dan Konsentrasi Auksin pada Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Kentang (*Solanum Tuberosum* L.). *Primordia*. 2016;12(2):102–16.
- [2] Rai SP, Wiendi NMA, Krisantini K. Optimasi Produksi Bibit Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) Kultivar Granola dengan Teknik Fotoautotrofik. *Bul Agrohorti*. 2015;3(1):28–38. doi 10.1017/CBO9781107415324.004
- [3] Lidinilah KAI. Pengaruh Berbagai Ukuran Bobot Ubi Benih Kentang G4 (*Solanum Tuberosum* L.) Varietas Granola dan Kompos Batang Pisang Terhadap

Pertumbuhan, Hasil dan Kualitas Kentang. *MPRA*. 2017;4(79303).

- [4] Amarullah MR, Sudarsono S, Amarillis S. Produksi dan Budidaya Umbi Bibit Kentang (*Solanum tuberosum* L.) di Pangalengan, Bandung, Jawa Barat. *Bul Agrohorti*. 2019;7(1):93–9. doi [10.29244/agrob.7.1.93-99](https://doi.org/10.29244/agrob.7.1.93-99)
- [5] Pratama AR, Sugiyono S, Prayoga Lu, Husni A. Upaya Memacu Pertumbuhan Tunas Mikro Kentang Kultivar Granola dengan Jenis dan Konsentrasi Sitokinin Berbeda. *Scr Biol*. 2014;1(3):209–15. doi [10.20884/1.sb.2014.1.3.553](https://doi.org/10.20884/1.sb.2014.1.3.553)
- [6] Elfiani E. Pengumbian In Vitro Kentang Granola. *Din Pertan*. 2013;28(1):33–8.
- [7] Tiwari S, Arya A, Kumar S. Standardization of Sterilization Protocol and Establishment of Callus Culture of Sugarcane for Enhance d Plant Regeneration in vitro. *Res J Bot*. 2012;7(1):1–7. doi [10.3923/rjb.2012.1.7](https://doi.org/10.3923/rjb.2012.1.7)
- [8] Oye banji O, Nweke O, Odebunmi O, Galadima N, Idris M, Nnodi U, et al. Simple, effective and economical explant-surface sterilization protocol for cowpea, rice and sorghum seeds. *African J Biotechnol*. 2009;8(20):5395–9. doi 10.5897/AJB09.923
- [9] Ardiansyah R, Supriyanto S, Wulandari AS, Subandy B, Fitriani Y. Teknik Sterilisasi Eksplan dan Induksi Tunas dalam Mikropropagasi Tembesu (*Fagraea Fragrans* ROXB). *J Silvikultur Trop*. 2015;5(3):167–73.



- [10] Zinabu D, Gebre E, Daksa J. Explants Sterilization Protocol for In-vitro Propagation of Elite Enset (*Ensete ventricosum* (Welw .) Chessman) Cultivars. *Asian J Plant Sci Res.* 2018;8(4):1–7.
- [11] Uzun S, Ilbaş AI, Ipek A, Arslan N, Barpete S. Efficient in vitro plant regeneration from immature embryos of endemic *Iris sari* and *I. schachtii*. *Turkish J Agric For.* 2014;38(3):348–53. doi 10.3906/tar-1306-47
- [12] Fauzan Y, Supriyanto S, Tajuddin T. Efektivitas Merkuri Klorida (Hgcl₂) pada Sterilisasi Tunas Sampling Jati (*Tectona Grandis*) In Vitro. *Bioteknol Biosains Indones.* 2017;4(2):78–84. doi [10.29122/jbbi.v4i2.2540](https://doi.org/10.29122/jbbi.v4i2.2540)
- [13] Webster W, Seymour S, Mitchell S, Ahmad M. A novel surface sterilization method for reducing microbial contamination of field grown medicinal explants intended for in vitro culture. *Conf Pap [Internet].* 2003;1–8. Available from: <http://www.kitchenculturekit.com/surfaceSterilizationMitchell2003.pdf>
- [14] Sudiyanti S, Rusbana TB, Susiyanti S. Inisiasi Tunas Kokoleceran (*Vatica bantamensis*) pada Berbagai Jenis Media Tanam dan Konsentrasi BAP (Benzyl Amino Purine) Secara In Vitro. *J Agro.* 2017;4(1):1–14. doi 10.15575/1069
- [15] Astuti P. Induksi Tunas dan Perakaran Bambu Kuning *Bambusa vulgaris* secara in vitro. 2014;2(2):109–14. doi [10.24252/bio.v2i2.476](https://doi.org/10.24252/bio.v2i2.476)
- [16] Hadiyana A, Syabana MA, Susiyanti S. Iniasi Tunas secara Kultur Jaringan pada *Stevia* (*Stevia Rebaudiana Bertoni*) dengan Konsentrasi Indole Butyric Acid (Iba) dan Benzyl Amino Purine (Bap) yang Berbeda. *Jur Agroekotek.* 2015;7(2):147–52. doi [10.33512/j.agrtek.v7i2.1080](https://doi.org/10.33512/j.agrtek.v7i2.1080)
- [17] Murashige T, Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol Plant.* 1962;15:26. doi 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- [18] Shofiyani A, Damajanti N. Pengembangan Metode Sterilisasi Pada Berbagai Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus Kencur (*Kaemferia galangal* L). *Agritech.* 2015;17(1):55–64. doi [10.30595/agritech.v17i1.1345](https://doi.org/10.30595/agritech.v17i1.1345)
- [19] Odutayo OI, Amusa NA, Okutade OO, Ogunsanwo YR. Determination of the sources of microbial contaminants of cultured plant tissues. *Plant Pathol J.* 2007;6(1):77–81. doi 10.3923/ppj.2007.77.81
- [20] Rodrigues DT, Novais RF, Venegas VHA, Dias JMM, Otoni WC, Villani EM de A. Chemical sterilization in in vitro propagation of *Arundina bambusifolia* Lindl. and *Epidendrum Ibaguense* Kunth. *Rev Ceres.* 2013;60(4):447–51. doi 10.1590/S0034-737X2013000400001
- [21] Ahmadi E, Nasr SMH, Jalilvand H, Savadkoobi SK. Contamination control of microbe *Ziziphus spina [christti]* seed in vitro culture. *Trees - Struct Funct.* 2012;26(4):1299–304. doi: 10.1007/s00468-012-0705-8
- [22] Queiroz C, Mendes Lopes ML, Fialho E, Valente-Mesquita VL. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. *Food Rev Int.* 2008;24(4):361–75. doi 10.1080/87559120802089332
- [23] Teixeira da Silva JA, Kulus D, Zhang X, Songjun Z, Ma G, Piqueras A. Disinfection of explants for saffron (*Crocus sativus*) tissue culture. *Environ Exp Biol.* 2016;14(4):183–98. doi 10.22364/eeb.14.25
- [24] Putri AI, Herawan T, Prastyono P, Haryjanto L. Pengaruh Teknik Sterilisasi Explan Terhadap Tingkat Perolehan Kultur Jaringan Aksenik Ramin (*Gonystylus Bancanus*). *J Pemuliaan Tanam Hutan.* 2017;11(2):131–8. doi 10.20886/jpht.2017.11.2.131-138
- [25] Pérez Flores J, Aguilar Vega M, Roca Tripepi R. Assays for the in vitro establishment of *Swietenia macrophylla* and *Cedrela odorata*. *Rev Colomb Biotecnol.* 2012;14(1):20–30. doi [10.15446/rev.colomb.biote](https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote)

